

ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DES ASQUES ET DES ASCOSPORES DE TRUFFES DU GENRE *TUBER*

II. — LES ASCOSPORES

par M.C. JANEX-FAVRE et A. PARGUEY-LEDUC*

RÉSUMÉ. — La paroi des ascospores a été comparée chez diverses Truffes du genre *Tuber* (*T. aestivum*, *T. bituminatum*, *T. dryophilum*, *T. excavatum*, *T. melanosporum*, *T. mesentericum*, *T. rufum*, *T. uncinatum*). Les observations ultrastructurales des ascospores adultes font apparaître une grande homogénéité de structure : leur paroi présente alors seulement deux couches superposées : l'épispore, interne, claire et régulière, et la couche ornementale externe, sombre, d'origine composite.

Par contre, dans l'évolution de la paroi interviennent les diverses couches classiquement reconnues dans les parois sporales, à savoir, de l'intérieur vers l'extérieur : l'épispore, l'exospore, la périspore et l'ectospore. Les épines caractéristiques du g. *Tuber* dérivent soit de l'exospore, soit de la périspore.

SUMMARY. — Comparison of ascospore walls in several Truffles (*Tuber aestivum*, *T. bituminatum*, *T. dryophilum*, *T. excavatum*, *T. melanosporum*, *T. mesentericum*, *T. rufum*, *T. uncinatum*). The final structure of ascospore walls is very homogeneous, with the superposition of only two layers : an inner regular episporium and an outer composite ornamental layer. The different usual layers are yet differentiated during the spore wall formation, from the interior to the exterior : the episporium, the exospore, the perispore and the ectospore. The spines characteristic of *Tuber* species derive either from the exospore or from the perispore.

Dans une précédente publication (PARGUEY-LEDUC et JANEX-FAVRE, 1981), nous avons décrit l'organisation des asques chez diverses espèces de Truffes du g. *Tuber*. Nous présentons maintenant nos observations relatives aux ascospores de ces mêmes Truffes (*T. aestivum*, *T. bituminatum*, *T. dryophilum*, *T. excavatum*, *T. melanosporum*, *T. mesentericum*, *T. rufum*, *T. uncinatum*), depuis le stade de la formation du sac pro-sporal qui délimite initialement chacune des ascospores jusqu'au stade adulte.

* Laboratoire de Cryptogamie - Université Pierre et Marie Curie - 9, Quai Saint-Bernard, 75005 Paris.

Ces nouvelles observations complètent celles, déjà publiées, sur les ascospores du *Tuber aestivum* (PARGUEY-LEDUC et JANEX-FAVRE, 1977 a), du *T. rufum* (JANEX-FAVRE, 1977) et du *T. mesentericum* (JANEX-FAVRE et PARGUEY-LEDUC, 1980).

1. — DÉLIMITATION DES ASCOSPORES

Rappelons que dans le jeune asque, le noyau diploïde, après avoir migré dans la région sommitale, s'y divise pour donner les futurs noyaux sporaux; ceux-ci se localisent tout près du plasmalemme. Sur le trajet de ce dernier se différencient alors de nombreux lomasomes (pl. I, fig. 1).

A partir de certains lomasomes (pl. I, fig. 2) prennent naissance des diverticules dirigés vers l'intérieur de l'asque. Ils sont formés par un feuillet simple tripartite. Au début de sa formation, ce feuillet est plissé; ensuite, il se détend progressivement, en s'allongeant dans la zone péri-nucléaire (pl. I, fig. 3), puis il entoure l'un des futurs noyaux sporaux.

Il se forme ainsi progressivement, autour de ce noyau, un sac (= sac pro-sporal) qui tend à se fermer pour délimiter une ascospore; la zone de fermeture se localise toujours du côté interne, au contact de la région du cytoplasme contenant des vacuoles à précipités (pl. II, fig. 1 puis 2 et pl. III, fig. 1).

Comme le feuillet dont il est issu, le sac pro-sporal est initialement simple et il le demeure lorsque, complètement fermé, il devient la paroi «primordiale» de la jeune ascospore (pl. III, fig. 2).

2. — PAROI PRIMAIRE

Très rapidement la paroi primordiale fait place à une paroi primaire formée de deux feuillets tripartites, séparés par un espace clair (pl. III, fig. 3). Pour cela, cette paroi primordiale unique se dédouble. Son dédoublement débute en plusieurs points espacés, où se trouvent ainsi délimitées, en coupe, des sortes de boutonnières. Celles-ci confluent peu à peu entre elles, de sorte que les deux feuillets deviennent parfaitement distincts. Le feuillet interne constitue alors le plasmalemme sporal.

Ensuite les deux feuillets s'écartent progressivement l'un de l'autre, chacun d'eux est sinueux mais leurs tracés ne sont pas strictement parallèles (pl. IV, fig. 1 et 2). A ce stade les ascospores quittent la périphérie de l'asque et se regroupent en son centre.

Par la suite la paroi primaire s'épaissit, son feuillet externe devient très irrégulier, dessinant des pointes et de courts piliers radiaires saillants dans l'épipleasme (pl. V, fig. 1 et 2). De place en place des éléments du réseau endoplasmique de l'épipleasme s'appliquent contre ce feuillet, qui apparaît ainsi localement double.

3. — FORMATION DE PILIERS RADIAIRES SUR LA JEUNE ASCOSPORE

Les pointes et les courts piliers qui hérissent la paroi primaire s'allongent et forment des piliers minces, disposés radialement tout autour de la spore.

Chez le *T. dryophilum* (pl. VI, fig. 1) ces piliers sont espacés, très fins mais dilatés en ampoules de place en place, sinueux et parfois ramifiés. Entre deux piliers successifs la paroi n'est pas denticulée.

Chez le *T. melanosporum* (pl. VI, fig. 2) les piliers radiaires sont beaucoup plus nombreux et larges, parfois confluent. A leur extrémité demeurent visibles des restes du réseau endoplasmique. La paroi est irrégulièrement ondulée entre deux piliers successifs.

La structure des piliers radiaires des ascospores du *T. aestivum* est voisine (PARGUEY-LEDUC et JANEX-FAVRE, 1977 a) mais leurs dilatations présentent une grande régularité : localisés à l'extrémité des piliers, d'abord sous forme d'ampoules, elles s'aplatissent ensuite progressivement et confluent entre elles.

Chez le *T. rufum* (JANEX-FAVRE, 1977) et le *T. mesentericum* (JANEX-FAVRE et PARGUEY-LEDUC, 1980) les piliers radiaires demeurent courts et trapus; ils s'épaississent irrégulièrement à partir de leur base.

4. — FORMATION ET ÉVOLUTION DE LA PARTIE SECONDAIRE DE LA PAROI

a) Formation de la périspore

Les bases confluentes des piliers radiaires forment une couche continue qui devient la périspore (pl. VII, fig. 1 et 2). Celle-ci s'épaissit progressivement, en intégrant les piliers radiaires (*T. rufum*, *T. mesentericum*) ou en les repoussant dans l'épéplosme (*T. aestivum*, *T. melanosporum*).

Lorsqu'elle est parfaitement développée, la périspore a une grande épaisseur : tantôt elle est transparente aux électrons (pl. VIII, fig. 1), tantôt elle contient des traînées de fines granulations ou de courtes fibrilles irrégulières, opaques aux électrons (pl. VII et pl. VIII, fig. 2), dont la densité augmente progressivement (pl. IX, fig. 1). Vers l'extérieur, la périspore est limitée par l'ectosporé résultant de la fusion d'éléments du réseau endoplasmique avec le feuillet externe de la paroi primaire. Les éléments du réseau sont toutefois encore visibles sur les figures de la planche VIII.

b) Formation de l'épispore et de l'exospore

A l'extérieur du plasmalemme se différencie une épispore, régulière et claire ou faiblement opaque aux électrons (pl. VI, fig. 2 et pl. VIII, fig. 1). A sa surface s'observent de place en place des masses irrégulières très denses aux électrons qui, en devenant coalescentes, forment une exospore pelucheuse (pl. VII, fig. 2 et pl. VIII, fig. 2).

c) Formation des épines ornementales

Les épines, qui caractérisent les ascospores dans l'ensemble du g. *Tuber*, n'ont pas la même origine chez toutes les espèces. Deux cas ont été reconnus :

α) les épines sont formées par la périspore.

Dans ce cas, celle-ci se rétracte brutalement, sauf en certains points où elle conserve son épaisseur; ces points constituent alors les sommets d'épines disposées sur toute la surface sporale. Ce cas est celui des *T. dryophilum*, *T. mesentericum*, *T. rufum* et *T. uncinatum*.

Chez ces espèces, le contenu des épines se présente sous la forme soit de filaments entremêlés (pl. X, fig. 2 et pl. XI), soit de granules denses (pl. XII, fig. 1), les uns et les autres disposés sans orientation particulière. Les épines sont recouvertes par l'ectospore.

β) les épines sont des expansions de l'exospore.

Chez le *T. aestivum* et le *T. melanosporum* leur formation débute alors que la périspore est encore fortement dilatée (pl. IX, fig. 1); elles s'ébauchent alors sous forme de fibres disposées perpendiculairement à l'exospore. Ces fibres s'allongent, convergent vers l'extérieur, puis se disposent en faisceaux coniques (pl. IX, fig. 2 et pl. X, fig. 1). L'ectospore vient se mouler contre chaque faisceau conique qui constitue alors une épine (pl. X, fig. 2).

5. — STADE FINAL

Au stade final, quelle qu'ait été l'évolution antérieure, la paroi des ascospores des Truffes présente, en coupe, une structure stratifiée, sensiblement identique chez les diverses espèces; celle-ci comprend :

a) une couche interne, appliquée contre le plasmalemme, d'une épaisseur remarquablement régulière, transparente ou faiblement opaque aux électrons (pl. XIII et pl. XIV). Cette couche est constituée par l'épispore, qui s'est nettement épaissie;

b) une couche externe ornementale, constituée par les épines dont les bases sont réunies entre elles en une nappe continue, d'épaisseur variable selon les espèces. Cette couche externe est constituée par l'exospore et les épines dont les composants internes deviennent progressivement indistincts (pl. XII, fig. 2; pl. XIII et pl. XIV).

A la surface des épines, l'ectospore demeure très longtemps visible (pl. XII, fig. 2 et pl. XIV, fig. 1). Dans le cas du *T. aestivum* certains éléments de l'ectospore ne s'appliquent pas directement contre les épines mais demeurent tendus entre leurs extrémités, en formant un voile (pl. XIII).

On sait que la détermination des espèces du g. *Tuber* est basée, de façon classique, sur le type d'ornementation sporale, qui est échinulé ou alvéolé (cf. notamment MALENÇON, 1938). Si cette distinction est parfaitement reconnaissable sur des spores observées «in toto», en microscopie photonique, elle n'apparaît par contre pas sur les coupes ultrafines.

CONCLUSION

Structure et évolution comparée de la paroi des ascospores
chez diverses Truffes

Rappelons que la délimitation des ascospores se fait individuellement pour chacune d'elles, à partir d'un sac pro-sporal constitué, autour de chaque noyau sporal, par un unique feuillet tripartite qui, une fois refermé sur lui-même, devient la paroi primordiale de la jeune ascospore (JANEX-FAVRE et PARGUEY-LEDUC, 1976; PARGUEY-LEDUC et JANEX-FAVRE, 1977 b et 1981).

Ce mode d'ascosporogénèse rappelle celui décrit chez les Héli-Ascomycètes, où chaque ascospore est, comme chez les Truffes, délimitée individuellement dans l'asque.

Il est par contre bien différent de celui existant chez les Eu-Ascomycètes, qui fait intervenir une vésicule ascale.

La paroi primordiale des ascospores des Truffes se transforme ensuite en une paroi primaire formée de deux feuilletts tripartites, qui s'écartent progressivement l'un de l'autre. Le feuillet interne devient le plasmalème sporal.

L'évolution ultérieure de la paroi ascosporale aboutit à une structure très semblable chez les différentes espèces, mais elle se réalise selon des modalités variées, qui sont résumées dans le tableau synthétique ci-après.

espèces	1	2	3	4	5	6
paroi ascosporale						
application du réseau endoplasmique contre la paroi primaire épaissie	+			+	+	+
formation de piliers radiaires	+	+	+	+	+	+
gonflement de la périspore accompagné de :						
- intégration des piliers				+	+	
- rejet des piliers dans l'épipleme	+		+			
épispore régulière	+	+	+	+	+	+
exospore d'abord pelucheuse	+		+	+	+	+
épines ornementales dérivant :						
- de l'exospore	+		+			
- de la périspore		+		+	+	+
présence d'un voile fugace reliant les extrémités des épines.						
Il est :	+					
- d'origine ectosporale						
- dérivé du réseau endoplasmique					+	

1 : *Tuber aestivum*; 2 : *T. dryophilum*; 3 : *T. melanosporum*; 4 : *T. mesentericum*; 5 : *T. rufum*; 6 : *T. uncinatum*.

L'interprétation de la structure de la paroi ascosporelle des Truffes n'a pas été aisée : nous nous sommes en effet heurtées à des difficultés dans la dénomination des diverses couches, en particulier de la plus interne. On peut interpréter cette dernière soit comme une endospore, du fait qu'elle est appliquée contre le plasmalemme, soit comme une épispore, du fait qu'elle est directement sous-jacente à l'exospore.

En fait, ces deux couches peuvent avoir une structure semblable, comme nous l'avons observé chez le *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not. (A. PARGUEY-LEDUC et al., 1982); en effet, chez cette espèce, elles sont superposées à l'extérieur du plasmalemme et ne peuvent être réellement distinguées qu'au niveau des septums où elles se séparent : l'endospore s'incurve alors et entoure individuellement chaque cellule. Ainsi, chez cette espèce, les ascospores étant pluricellulaires, l'identification de l'endospore est facile; par contre, chez les Truffes à ascospores unicellulaires, elle est plus délicate.

C'est pourquoi il nous a semblé plus opportun, dans nos publications sur les Truffes, de nommer épispore la couche interne de la paroi et ce, par comparaison avec ce que PERREAU (1967, 1976) a décrit chez les Basidiomycètes. Selon cet auteur, en effet, dans les basidiospores, l'épispore est toujours lisse, claire et régulière, et de plus elle est associée à une exospore ornementée : ces caractères se trouvent également réunis chez les Truffes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement R. Cailleux, G. Chevalier, B. Darchen, H. Frochot, F. Magne, G. Malençon, C. Montant et L. Rioussel de nous avoir procuré et déterminé les Truffes utilisées pour ce travail, et nous avons plaisir à rappeler la précieuse collaboration technique de C. Bidoux, C. Fournigault et N. Jampsin.

BIBLIOGRAPHIE

- BERTA G. and FUSCONI A., 1983 - Ascosporeogenesis in *Tuber magnatum*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 80 : 201-207*.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1976 - La formation des ascospores chez deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. (Tubéracées). *C. R. Acad. Sci. Paris* 283 : 1173-1175.
- JANEX-FAVRE M.C., 1977 - La paroi des ascospores du *Tuber rufum* Pico. *Bull. Soc. Mycol. France* 93 : 407-424.
- JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1980 - Formation et évolution des ascospores du *Tuber mesentericum* Vitt. *Bull. Soc. Mycol. France* 96 : 225-237.
- MALENÇON G., 1938 - Les Truffes européennes - Historique - Morphogénie - Organographie - Classification - Culture. *Rev. de Mycol.* 3 (5).

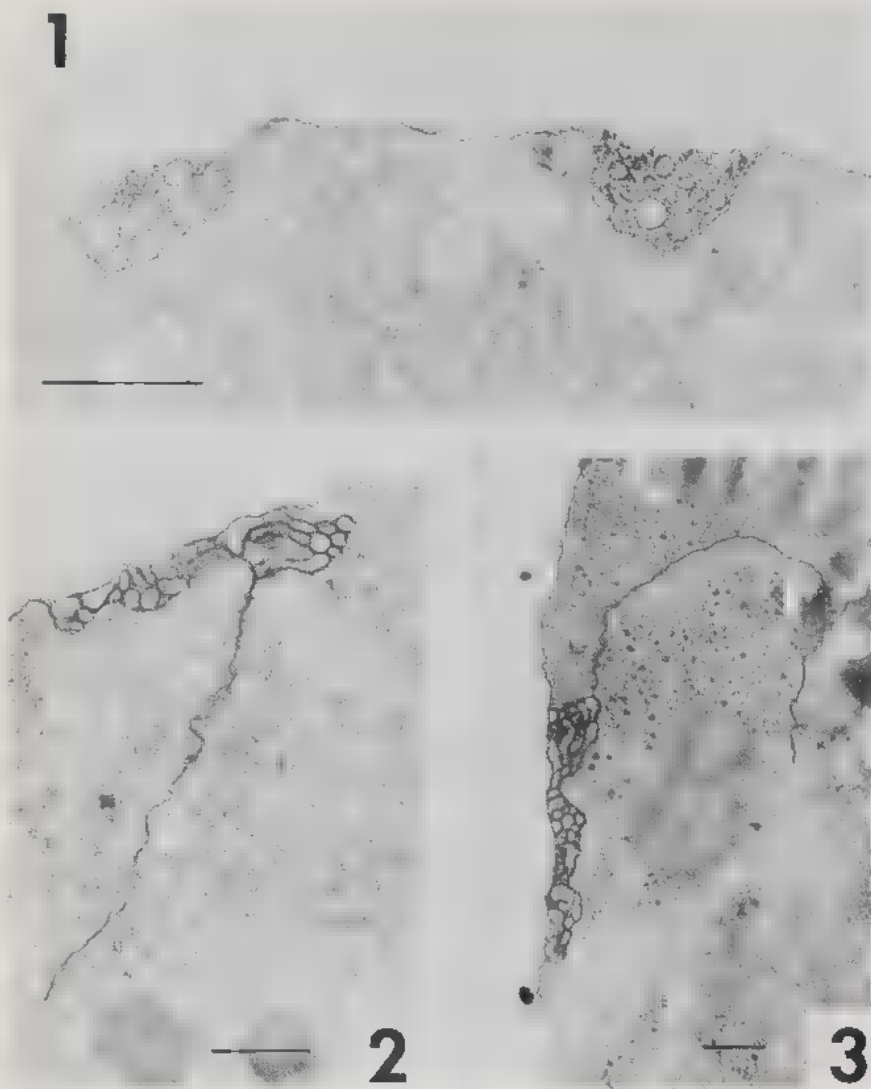
* Nous n'avons malheureusement pu tenir compte de cette publication parue seulement après la mise sous presse de notre article.

- PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1977 a — L'ornementation des ascospores chez le *Tuber aestivum* Vitt. Travaux dédiés à G. VIENNOT-BOURGIN, *Soc. Fr. Phytopathol.* : 307-323.
- PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1977 b — L'organisation des asques de deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. *Rev. de Mycol.* 41 : 1-32.
- PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1981 — Étude ultrastructurale des asques et des ascospores de Truffes du g. *Tuber*. I. Les asques. *Cryptogamie, Mycologie* 2 : 37-53.
- PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C., ANDRIEU S., LACOSTE L. et TRAORE F., 1982 — Les périthèces et les asques du *Leptosphaeria (?) senegalensis* Segretain, Baylet, Darasse et Camain. *Ann. de Parasitologie* 57 (2) : 179-195.
- PERREAU-BERTRAND J., 1967 — Recherches sur la différenciation et la structure de la paroi sporale chez les Homobasidiomycètes à spores ornées. *Ann. Sci. Nat. Bot. et Biol. vég.*, 12ème ser., 8 : 639-745.
- PERREAU J., 1976 — Développement, morphologie et structure de la basidiospore (chez les Homobasidiomycètes). *Information scientifique* 31 : 55-75.

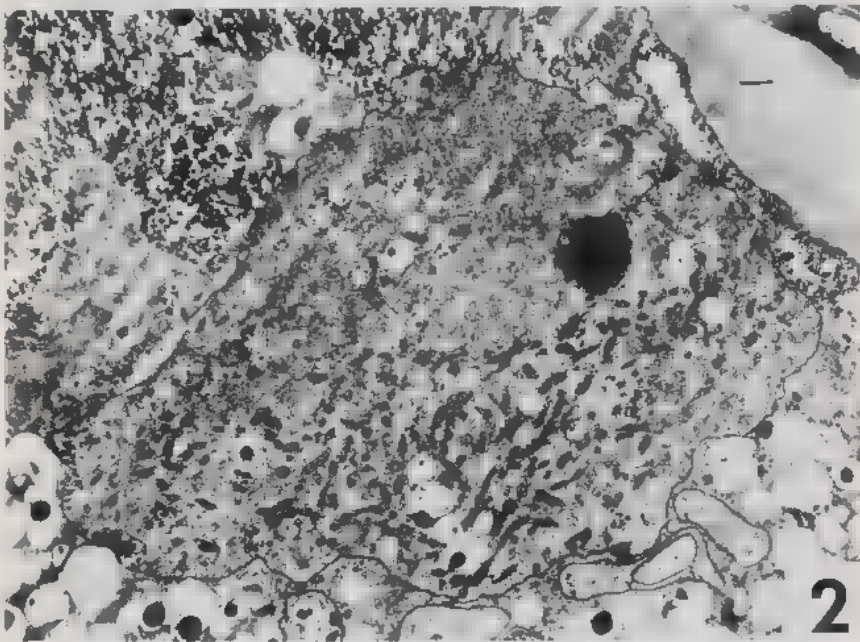
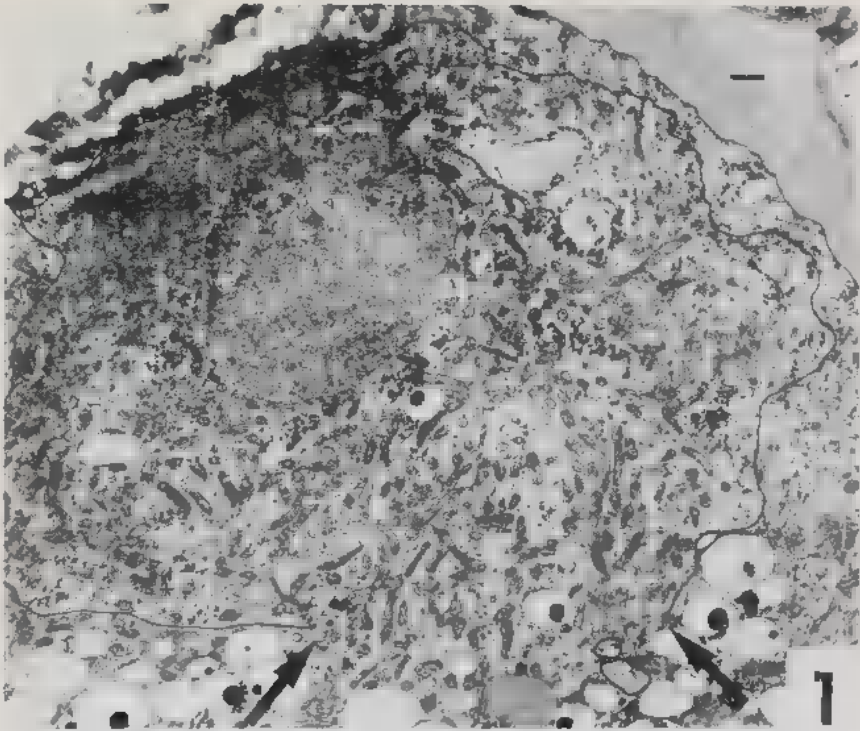


Pour toute cette étude, nous avons utilisé la double fixation par le glutaraldéhyde puis le tétr oxyde d'osmium. Les coupes ont été contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, ou traitées par la technique de Thiéry (Planche I).

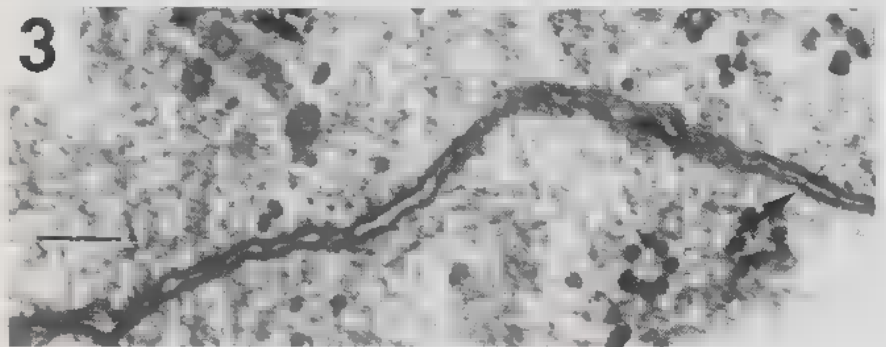
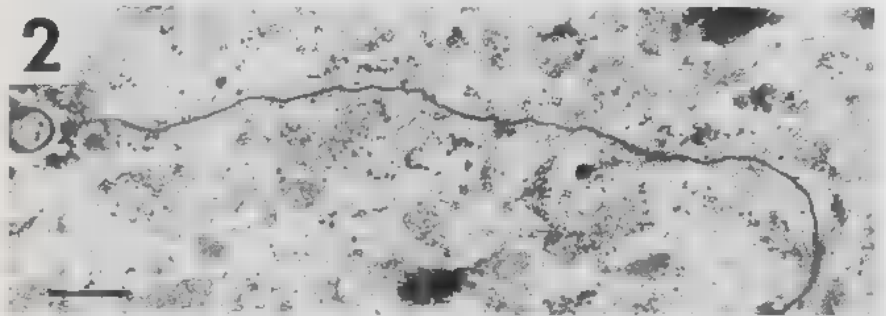
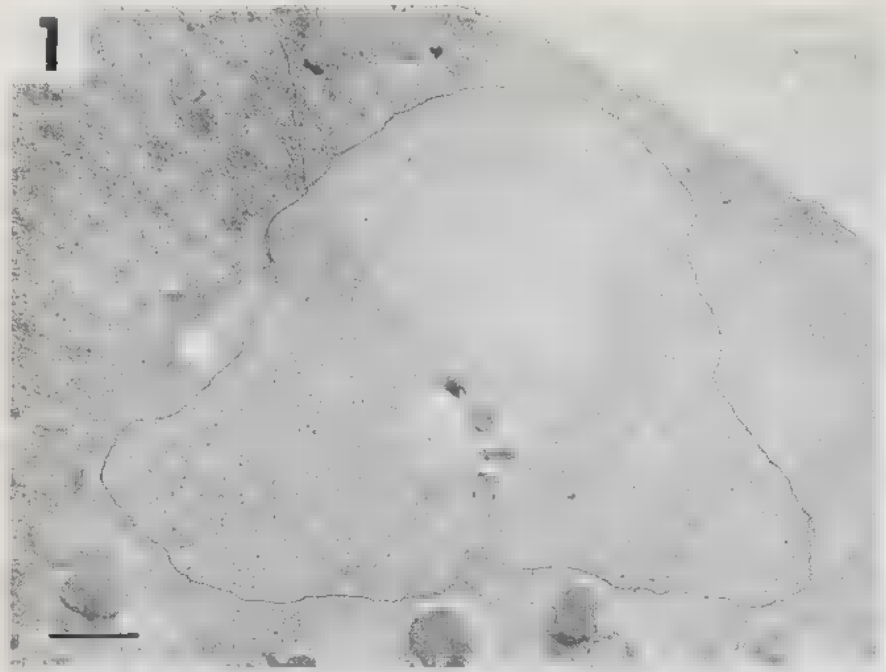
Échelle des planches : 0,5 μ m, sauf pl. III, fig. 3 : 0,1 μ m.



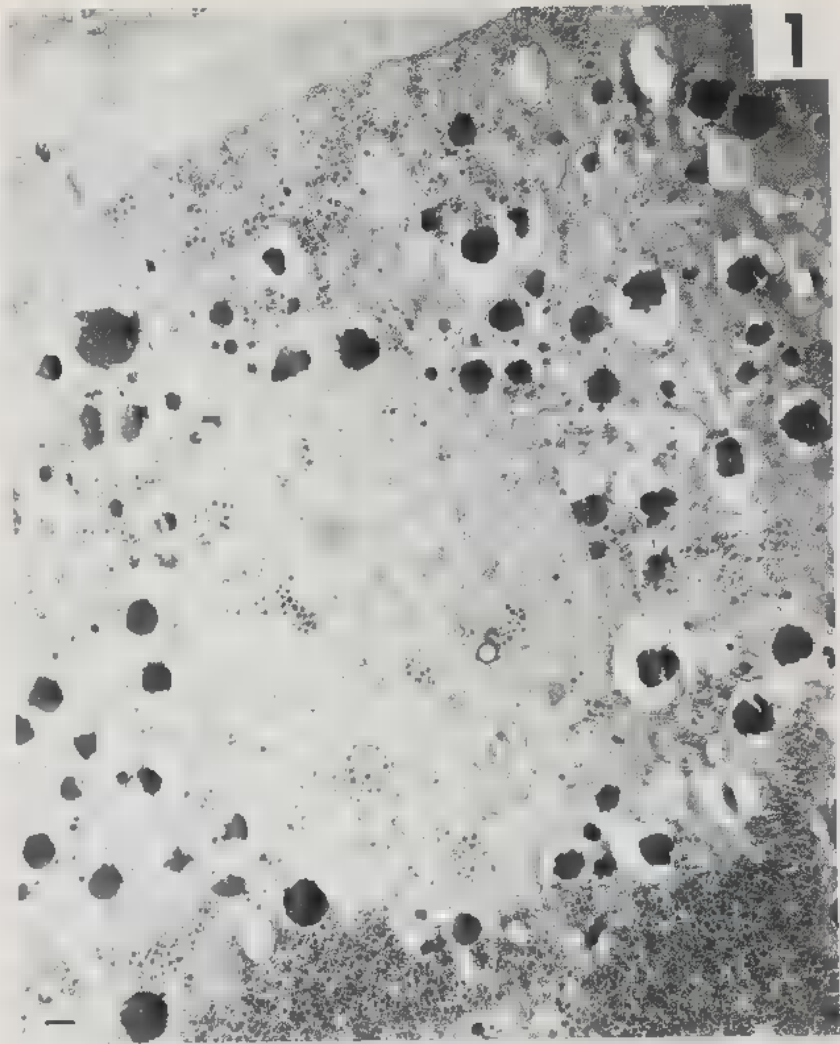
Pl. I Formation du sac pro-sporel à partir de plasmalemmasomes chez le *T. aestivum*.



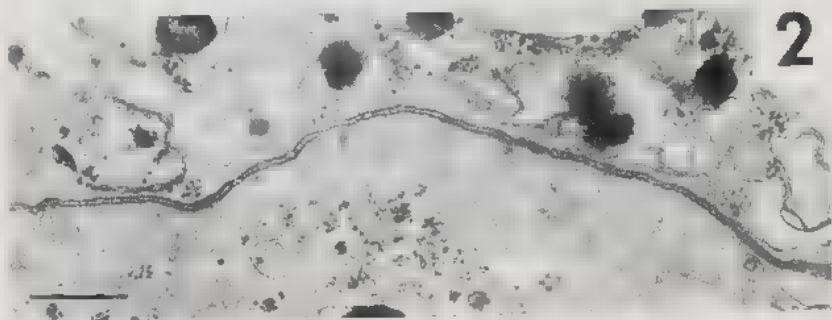
Pl. II — Délimitation de l'ascospore chez le *T. mesentericum*. Fig. 1 : le sac pro-spore n'est pas encore fermé (flèches). Fig. 2 : le sac, complètement fermé, devient la paroi primordiale simple de l'ascospore.



Pl. III - Paroi primordiale et paroi primaire. Fig. 1 : paroi primordiale simple chez le *T. aestivum*. Fig. 2 : détail de la paroi primordiale simple chez le *T. mesentericum*. Fig. 3 : détail de la paroi primaire, à deux feuillets tripartites, chez le *T. mesentericum*.



1

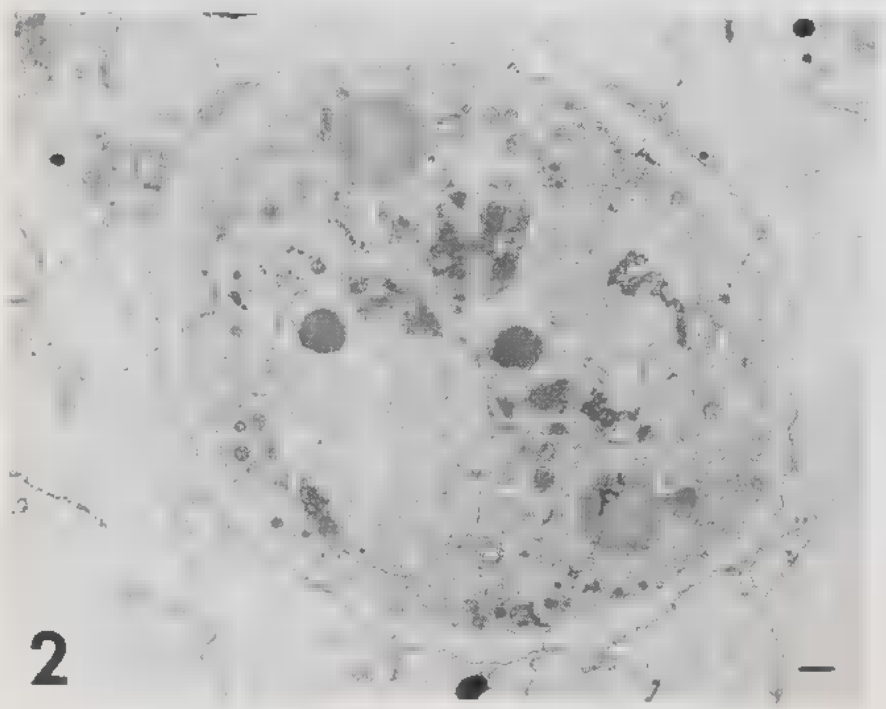


2

Pl. IV – Début d'écartement des deux feuillets de la paroi primaire chez le *T. rufum*. Fig. 1 : ensemble de l'ascospore. Fig. 2 : détail de la paroi primaire.

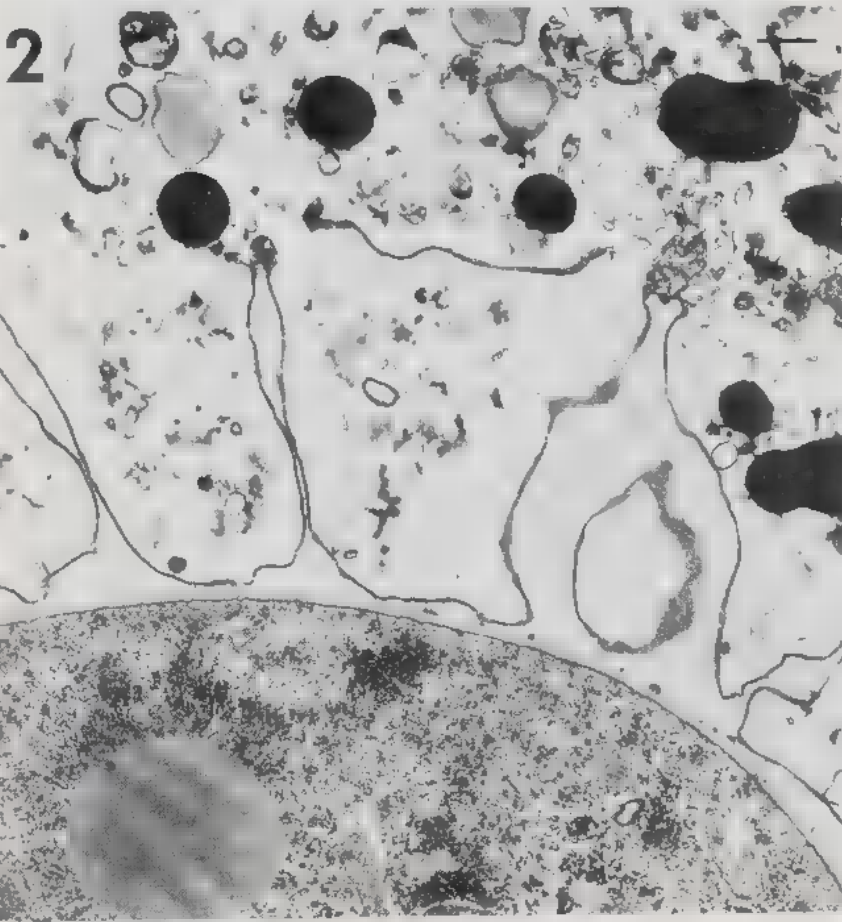


1



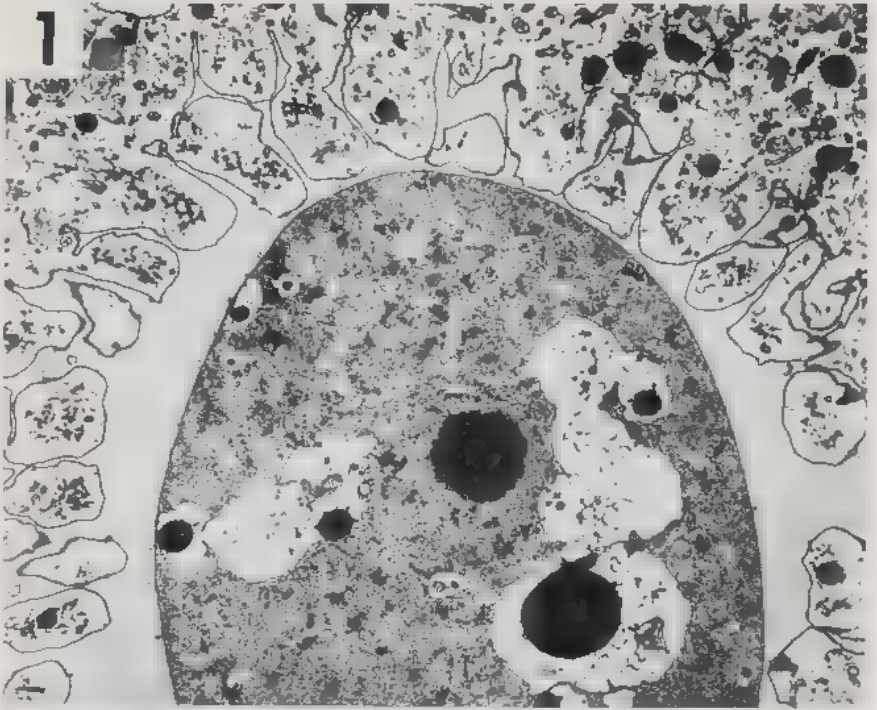
2

Pl. V - Paroi primaire épaissie : son feuillet externe forme des pointes, il est localement doublé par des éléments du réseau endoplasmique. Fig. 1 : *T. rufum*. Fig. 2 : *T. uncinatum*.

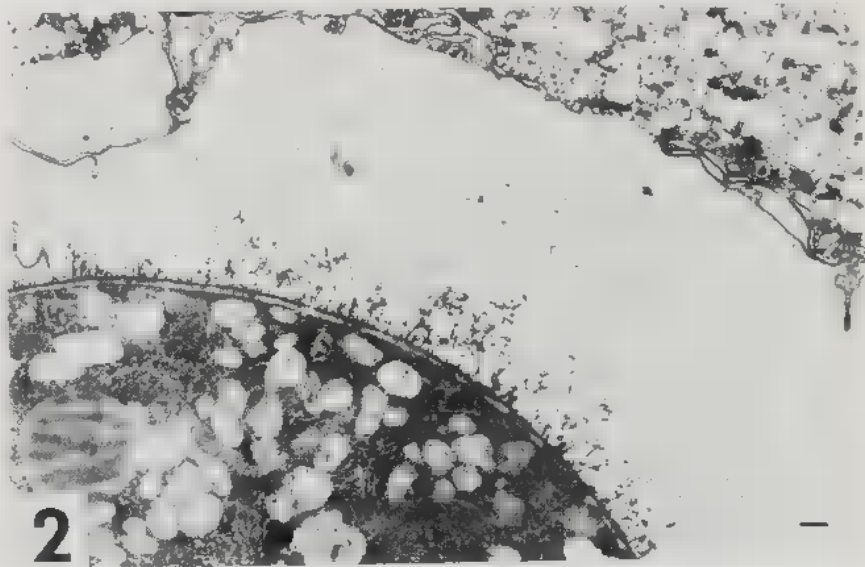
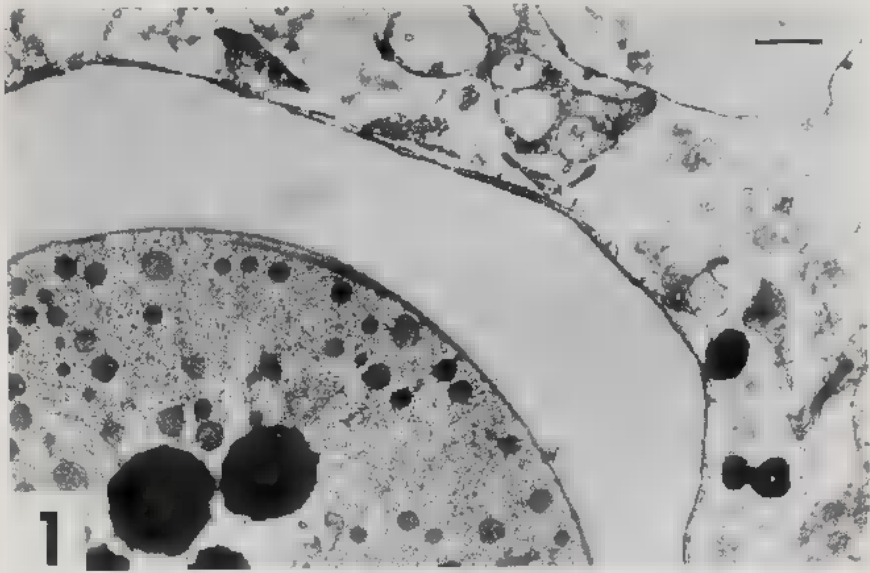


Pl. VI - Allongement des pointes en piliers radiaux. Fig. 1 : *T. dryophilum*. Fig. 2 : *T. melanosporum*.



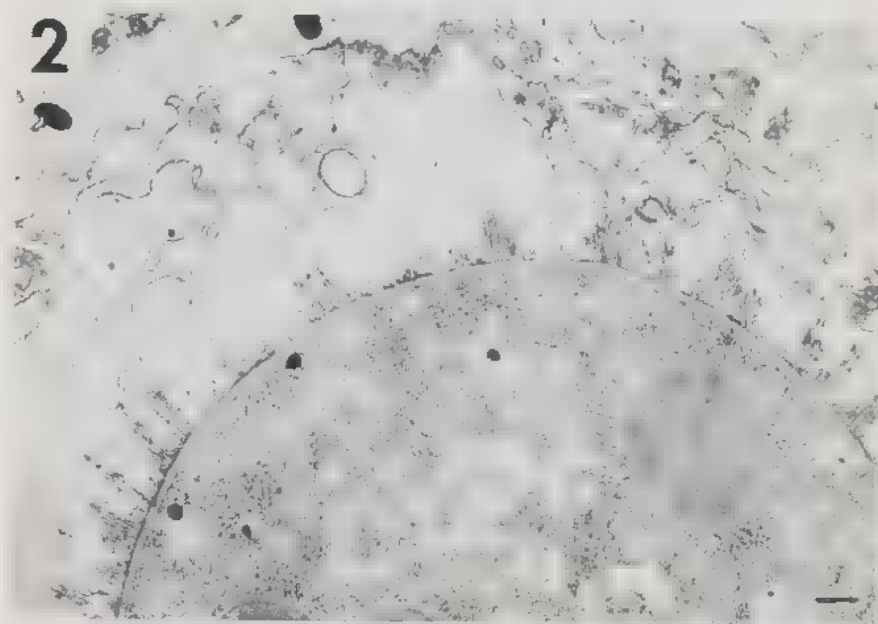
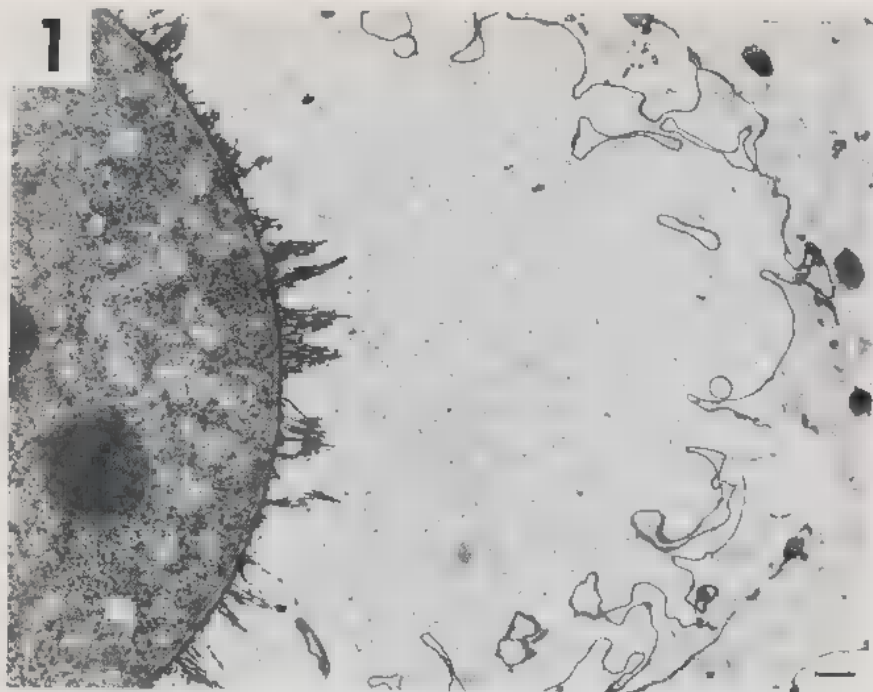


Pl. VII – Formation de la perispore qui repousse dans l'épiplasma les piliers radiaires (fig. 1) puis de l'épispore et de l'exospore (fig. 2) chez le *T. melanosporum*.

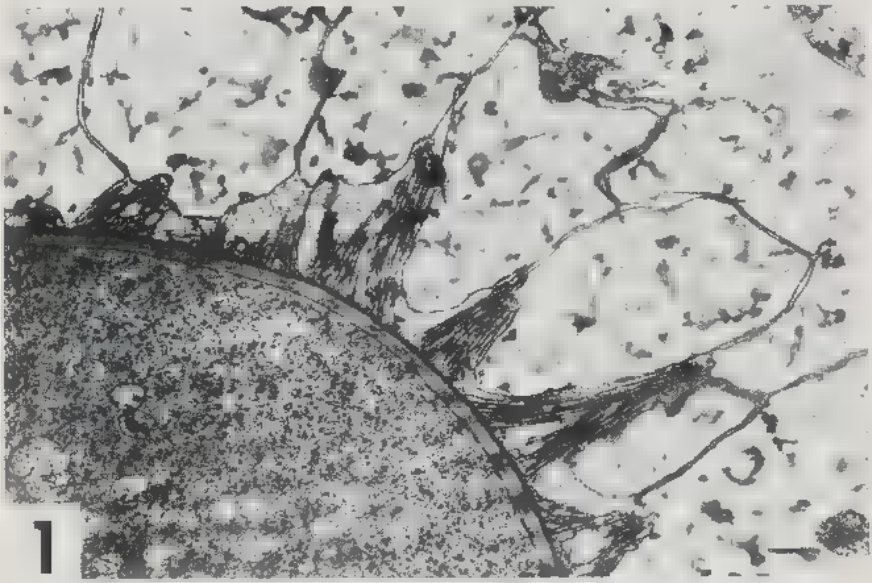


Pl. VIII – Gonflement de la périspore. Fig. 1 : des éléments du réseau endoplasmique sont encore visibles à la surface de la périspore; *T. uncinatum*. Fig. 2 : formation de dépôts à la surface de l'exospore, *T. melanosporum*.

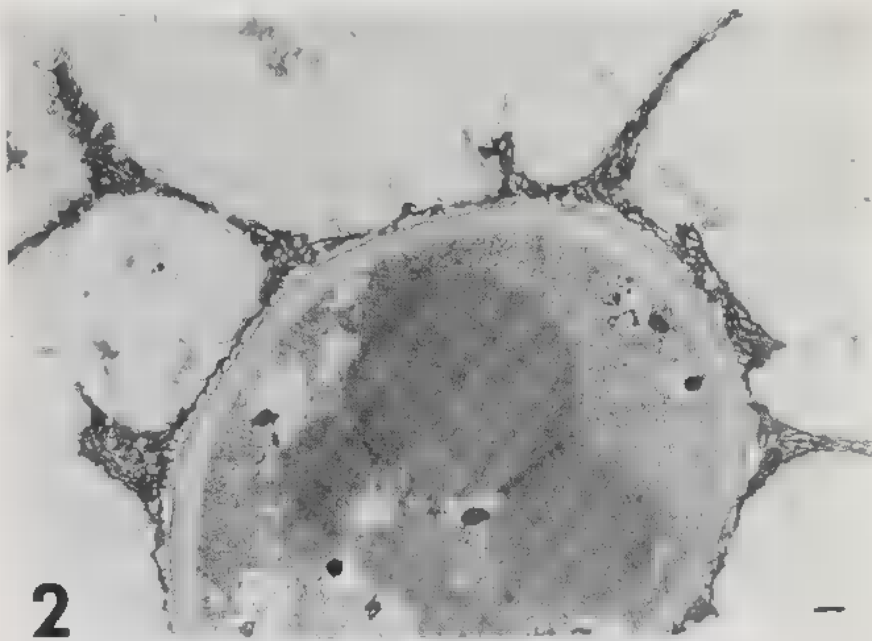




Pl. IX — Formation des épines à partir des dépôts exosporiques chez le *T. melanosporum*.
Sur la fig. 1 la périspore est encore dilatée tandis qu'elle régresse sur la fig. 2.

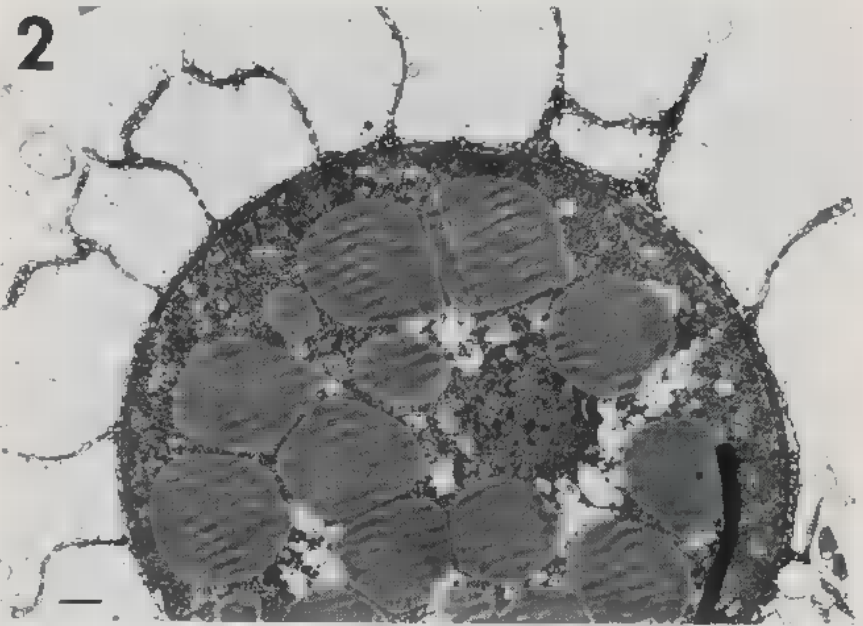
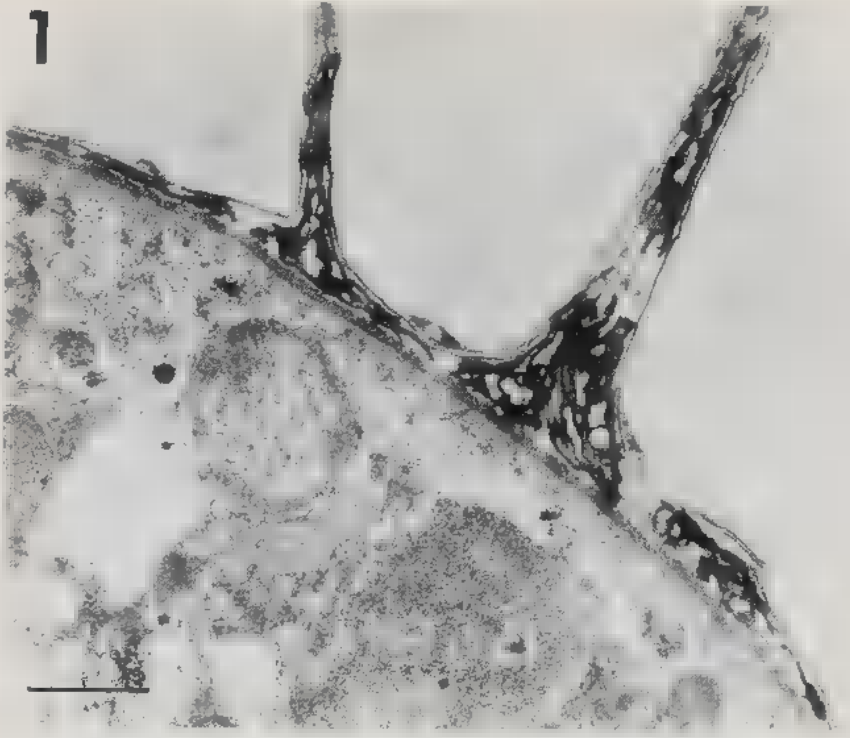


1

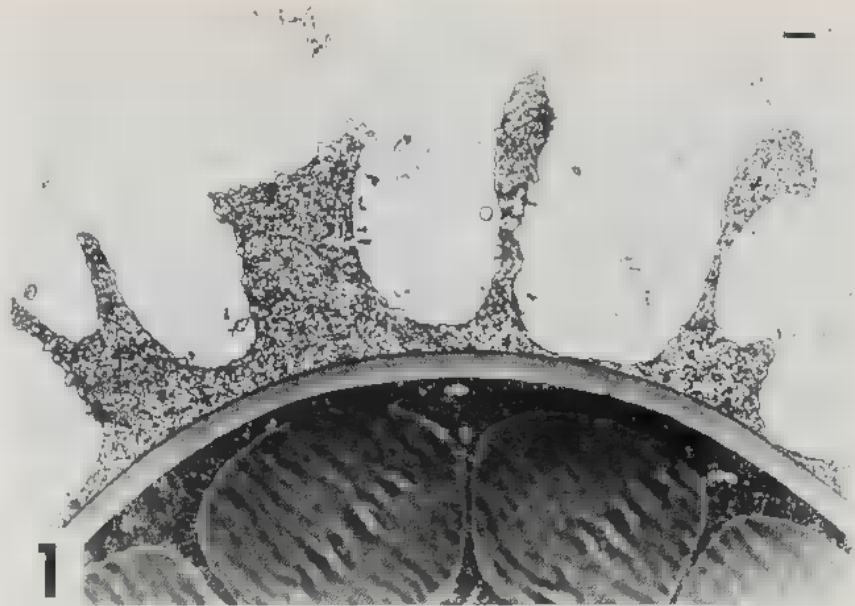


2

Pl. X — Fig. 1 : rétraction de la périspore, qui s'applique contre les faisceaux coniques de fibres provenant de l'exospore: *T. melanosporum*. Fig. 2 : rétraction de la périspore qui délimite les épines recouvertes par l'ectospore et contenant des filaments irréguliers; *T. uncinatum*.

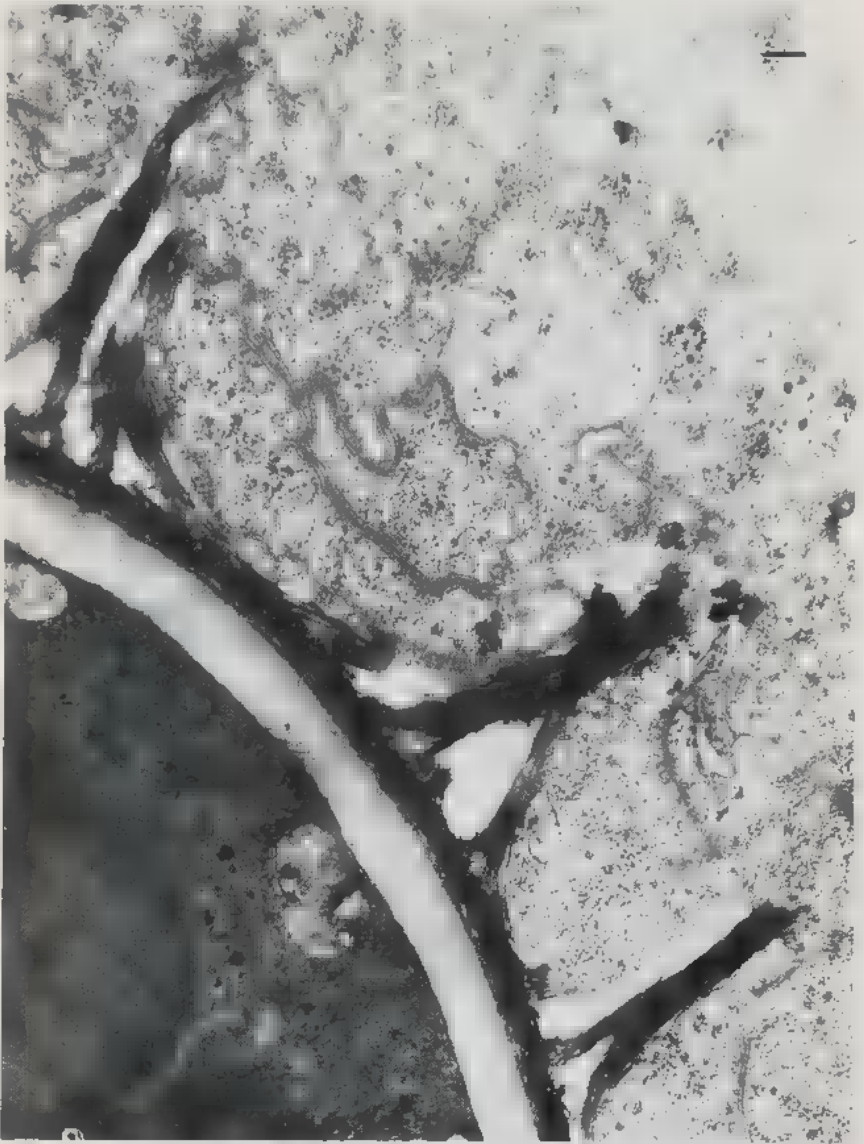


Pl. XI – Fig. 1 : détail des épines périscopiques chez le *T. uncinatum*. Fig. 2 : épines d'origine périscopique chez le *T. dryophilum*.

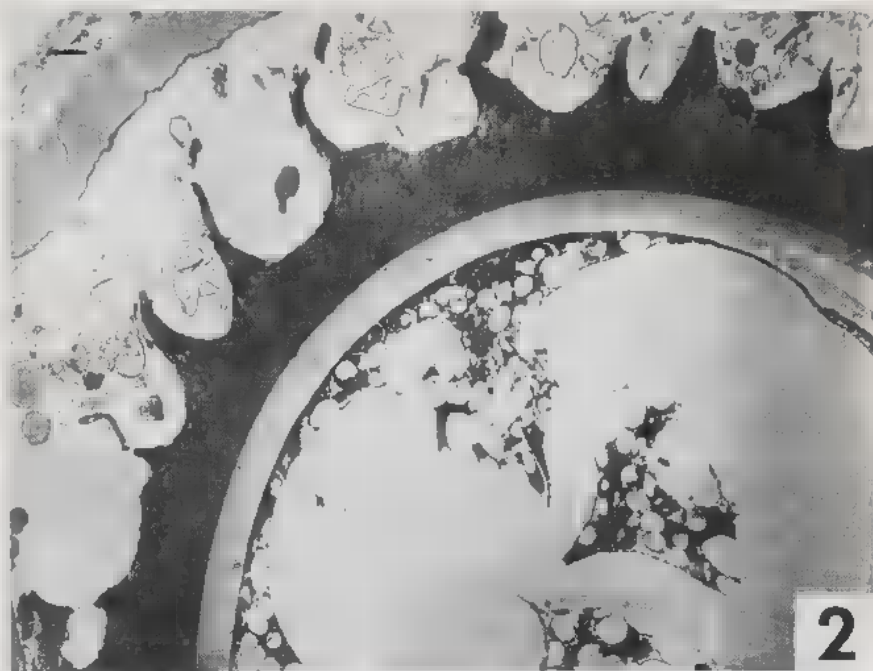
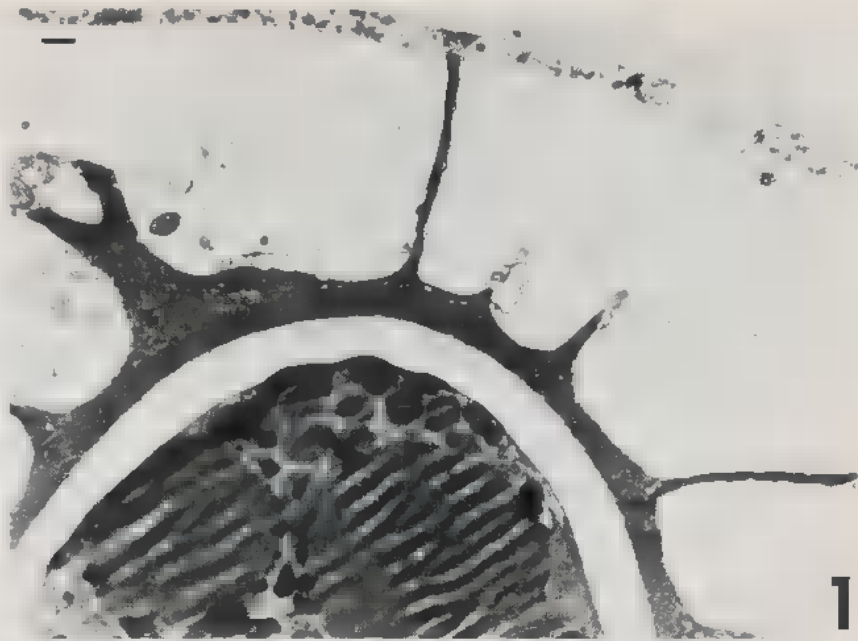


Pl. XII — Fig. 1 : élargissement des épines périssporiques chez le *T. dryophilum*. Fig. 2 : détail d'une épine au stade final : l'ectospore est encore visible: *T. excavatum*.





Pl. XIII — Formation d'un voile reliant les extrémités des épines chez le *T. aestivum*.



Pl. XIV — Épaississement et homogénéisation des couches de la paroi qui comporte, au stade terminal, une épispore claire épaisse et régulière et une couche ornementale sombre.
 Fig. 1 : *T. bituminatum* : l'ectospore est encore distincte à la surface des épines. Fig. 2 : *T. melanosporum*.

